

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-97897

(43)公開日 平成5年(1993)4月20日

(51)Int.Cl.⁵

C 0 7 K 15/06
3/10
3/18

識別記号

庁内整理番号
7731-4H

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数1(全 5 頁)

(21)出願番号 特願平3-255083

(22)出願日 平成3年(1991)10月2日

(71)出願人 000001421

キュービー株式会社

東京都渋谷区渋谷1丁目4番13号

(72)発明者 堀池 俊介

東京都西多摩郡瑞穂町大字箱根ヶ崎1469の1

(72)発明者 三尋木 健史

東京都日野市南平6番11番地の2

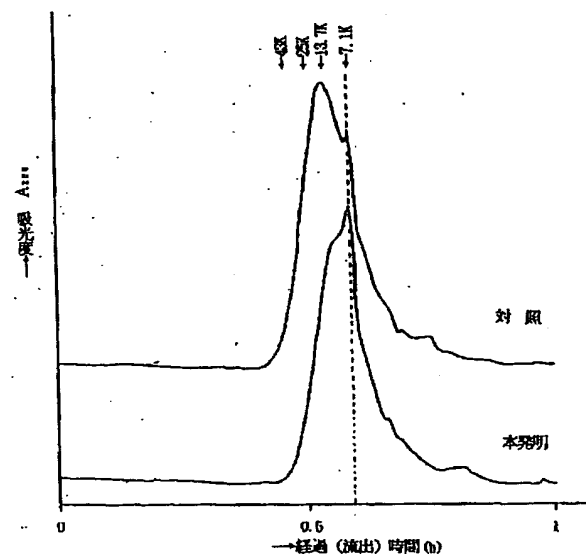
(74)代理人 弁理士 藤野 清規

(54)【発明の名称】 卵殻膜分解物

(57)【要約】

【構成】ゲル濾過法による測定で、分子量 $6.0 \times 10^3 \sim 8.0 \times 10^3$ の加水分解物が、加水分解物中最も多く含まれることを特徴とする卵殻膜分解物。

【効果】従来品に比べ肌あれ改善効果などの高い化粧品を製造することができる。



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 卵殻膜の加水分解物において、ゲル濾過法による測定で分子量 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲の加水分解物が加水分解物中で最も多く含まれることを特徴とする卵殻膜分解物。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【産業上の利用分野】 本発明は、卵殻膜分解物に関する。

【0002】

【従来の技術】 卵殻膜は、古くから創傷の治療などに利用されてきた。この卵殻膜をいろんなものに添加して使用し易くするため、また異臭（硫黄臭）などのないものを作るため、本発明者は、先にアルカリ性の含水有機溶媒中で卵殻膜を加水分解して卵殻膜分解物を得る方法を発明し、特許出願した（特開平1-275512）。

【0003】 ところで、この方法では、加水分解の好ましい温度条件は $30 \sim 60^\circ\text{C}$ であり、本発明者がゲル濾過法で加水分解物の構成を調べたところ、最も多く含まれていた加水分解物の分子量は約 14×10^3 であったが、この分子量が前記の値より一段と小さいと卵殻膜分解物はまた違った用途・適性が考えられる。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、卵殻膜の加水分解物の中で、最も多く含まれる加水分解物の分子量が約 14×10^3 よりも一段と小さいものとなる、新規な卵殻膜分解物を提供することを目的としてなされたものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者は、上記の目的を達しようとして鋭意研究した結果、本発明を完成した。すなわち、本発明は卵殻膜分解物に関し、卵殻膜の加水分解物においてゲル濾過法による測定で分子量 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲の加水分解物が加水分解物中で最も多く含まれることを特徴とするものである。

【0006】 以下、本発明を詳細に説明する。本発明でいう卵殻膜の加水分解物とは、鳥卵の卵殻の内側にある卵殻膜を加水分解したものをいう。卵殻膜の代表的な例として鶏卵の卵殻膜が挙げられる。また、ゲル濾過法による測定とは、分子篩の機能のある充填剤を詰めたカラムに、求める物質を含む溶液を展開した時にカラムから流出してくる物質の時間位置と、分子量が既知の物質を溶解した標準溶液を展開し、この分子量既知物質が流出してくる時間位置との相関関係から（分子量の大きさを）計算して求める測定をいう。

【0007】 分子量 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲の加水分解物が加水分解物中で最も多く含まれるとは、上記のゲル濾過法による測定で分子量がこの範囲に入る卵殻膜の加水分解物が最も多く含まれることをいう。より具体的に言い換えるならば、カラムに流入する溶液の流速

（容量／時間）を一定としたときの溶液流出の経過時間をよこ軸とし、流出液についての経過時間ごとの280nm（蛋白質、又はペプチドの存在で吸収される波長）の紫外線吸光値をたて軸として、流出液の紫外線吸光度曲線を描いたときに、最大吸光値（曲線の最大ピーク）に対応する卵殻膜分解物の分子量が $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲にあることをいう。

【0008】 なお、充填剤、分子量既知蛋白質の種類などの条件により分子量の測定結果が異なってしまう場合には、本発明の下記試験例の条件に従い測定して得られる値を採用する。本発明の卵殻膜分解物は、化粧品、医薬、食品などの原料として使用することができる。

【0009】 以下、本発明の卵殻膜分解物の代表的製造方法について述べる。まず、殻付鶏卵を割卵して卵液を除去して卵殻を得、この卵殻を水洗した後、破碎してから水中にいれ、卵殻膜を卵殻から分離・浮遊させて回収する。なお、卵殻膜は上記のように回収されたものを使用してもよいが、それをさらに乾燥・保存したものを利用してもよい。

【0010】 次に、卵殻膜をアルカリ性含水有機溶媒に添加し、所定時間加温する。アルカリ性含水有機溶媒とは、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどのアルカリ剤と、メタノール、エタノール、アセトン、プロパノール、ブチレングリコールなどの有機溶媒とを水の存在のもとに混合したものをいう。有機溶媒は、前記のように水溶性のものが好ましい。

【0011】 アルカリ性含水有機溶媒は、一般的に有機溶媒の濃度を $10 \sim 90\%$ 、望ましくは $30 \sim 60\%$ とし、アルカリ剤の濃度を $0.2 \sim 3.0\text{N}$ 、望ましくは $0.5 \sim 1.5\text{N}$ とすればよい。有機溶媒の濃度がこの範囲より低いと卵殻膜が分解されにくい傾向となり、この範囲より高いと分解した卵殻膜が溶媒中に溶け込み難くなる傾向となるからである。また、アルカリ濃度については、この範囲より低いと卵殻膜が分解されにくい傾向となり、この範囲より高いと卵殻膜が分解されすぎ、ひいては望む分子量の加水分解物を多く有する加水分解物を得にくい傾向となるからである。

【0012】 卵殻膜の添加割合としては、卵殻膜とアルカリ性含水有機溶媒の比率に直して、 $1:1000 \sim 1:5$ くらい（重量基準：卵殻膜は乾燥重量基準）とすればよい。加温の温度は $50 \sim 95^\circ\text{C}$ 、望ましくは $60 \sim 80^\circ\text{C}$ とし、またその時間は $1 \sim 72$ 時間、望ましくは4時間以上とすればよい。

【0013】 温度を前記の温度範囲より低くすると、処理の時間を長くしても最も多く含まれる加水分解物の分子量が約 10×10^3 以上となり、分子量が $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲の加水分解物を分解物中で最も多くすることがでにくい傾向となる。このようにして得られた卵殻膜の加水分解物は、分解物が溶液中に存在したままとしてもよいが、通常溶解していない成分と分離するた

めのフィルター濾過や遠心分離、酸剤を添加してのpH調整（中和処理）、マイクロフィルターによる除菌処理、電気透析などの脱塩処理などを行って精製する。さらに、必要に応じて乾燥して製品とする。

【0014】

【作 用】本発明の卵殻膜の加水分解物がいかなる理由により、すぐれた生理効果を発揮するのか定かではないが、先の出願の方法（加水分解の温度：30～60℃）によって得られる卵殻膜の加水分解物中には、一番多く含まれていた分解物は分子量 $13 \times 10^3 \sim 14 \times 10^3$ の範囲のものであったが、本発明の卵殻膜の加水分解物では、これが減少し、代わって、前記の分解物の約半分の分子量 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲の物質が増加しており、おそらく低分子のため皮膚への浸透性がよりよくなることなどにより、卵殻膜の有する生理作用が発現されやすくなっているからではないかと推察される。

【0015】以下、本発明の実施例、試験例について説明する。

【実施例】

実施例

鶏卵を割卵して卵液を除き、得られた卵殻を水洗してから1～3mm大に破碎して水中に入れ、水流により卵殻から卵殻膜を分離・浮遊させて、これを回収し、乾燥させた。次に、乾燥した卵殻膜2kgに、水酸化ナトリウム濃度を1Nに調整したアルカリ性含水エタノール（エタノール濃度40%）40リットルを加え、攪拌しながら70℃で5時間加水分解処理をした。得られた処理液を氷酢酸を用いてpH8に調整し（ほぼ中和）、不溶物をフィルターを用いて除去した後、電気透析により脱塩して卵殻膜の加水分解物溶液を得た。さらにこの溶液から溶媒であるエタノールと水を蒸発させて、本発明の卵殻膜分解物（乾燥品）を得た。

【0016】

【試験例】

試験例

＜分解物の組成の調査＞実施例で得られた卵殻膜分解物（本発明品）と、対照として分解処理温度のみ70℃ではなく40℃とした他は実施例と同じ条件で処理して製した卵殻膜分解物（対照品）を使用し、下記の条件でゲル濾過を行なって、流出する液について時間経過にとも

（化粧用クリームの配合）

原料の種類	
配合A	
ミツロウ	6.0
セタノール	5.0
還元ラノリン	8.0
スクワラン	37.5
脂肪酸グリセリン	4.0
親油性モノステア	
リン酸グリセリン	2.0

なう280nmにおける紫外線吸光度を測定した。その結果の吸光度曲線は図1に示すとおりである。既知分子量の蛋白質〔オボアルブミン（分子量43000）、キモトリプシノーゲンA（同25000）、およびリボヌクレアーゼA（同13700）の3種、ファルマシア社製品を使用〕を卵殻膜分解物の展開に用いるのと同じ展開溶液で展開し、溶出時間（位置）を求め、その時間（位置）と分子量の相関関係を描き、本発明卵殻膜分解物の最大吸光度に対応する卵殻膜分解物の分子量を求めたところ約 7.1×10^3 となり、 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ の範囲内であることが確認された。

【0017】ゲル濾過の計測条件は次の通りである。

FPLCシステム使用

カラム Superose 12 HR10/30
 流速 0.5ml/分
 展開溶液 50mMリン酸・100mM塩化ナトリウム水溶液
 (pH7.5)

展開溶液中の卵殻膜分解物濃度は、10%とした。

【0018】なお、図中、43Kはオボアルブミンの、25KはキモトリプシノーゲンAの、13.7KはリボヌクレアーゼAの各流出（時間）位置を、また、7.1Kは本発明品の最大ピークの位置を各々示す。また、本発明と対照の吸光度曲線は、溶出液の時間単位を同一とした際のピーク位置が比較して見易いように意図的に上下にずらしてある。

【0019】＜化粧品での使用結果＞肌あれで悩んでいる20～50才の女性7人をパネラーとし、本発明品（実施例で得たもの）と対照品（試験例で得たもの）との卵殻膜分解物を各別に配合した下記の配合の化粧用クリーム（2種類）を調製した。本発明品クリームと対照品クリームを片方を1ヶ月使用すると1ヶ月休止期間を設け、次にもう片方を1ヶ月使用するという形で各々延べ2ヶ月使用し、その使用感の評価をした。評価の方法は、使用後の肌あれ改善効果が対照品クリームと比べ本発明クリームの方が良いと思うものには、悪いと思うものには×、どちらとも言えないと思うには△とした。その結果を表1に示す。

【0020】

配合割合（重量%）

ポリオキシエチレンソルビタン	2.0
香料	0.5
メチルパラペン	0.2
配合B	
卵殻膜分解物（乾燥物）	2.0
コンドロイチン硫酸A	0.2
プロピレングリコール	5.0
精製水	27.6
合計（配合Aと配合Bの和）	100.0

配合Aと配合Bの各原料を各々加熱溶解した後、両者を混合して乳化させ、冷却して化粧用クリームとした。

【0021】

【表1】

パネラー	A	B	C	D	E	F	G
使用感	○	○	○	△	○	△	○

表より、本発明の卵殻膜分解物を用いた方が、使用感上

の評価が格段に高いことが理解できる。

【0022】

【発明の効果】以上のように、本発明によれば、従来にない組成を有する新規な卵殻膜分解物が提供される。さらに、化粧品などの原料として用いれば、従来品に比べ肌あれ改善効果などの高い化粧品を製造することができる。

【0023】

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、本発明の卵殻膜分解物と対照の卵殻膜分解物の、ゲル濾過による計測結果を示す。

【図1】

